

**STRUCTURE ET  
DYNAMIQUE  
CONFORMA  
TIONNELLE  
DES PROTEINES**

**JEANNINE YON**

*Hermann  
Paris*



*Collection  
Méthodes*

Directement issue de la réforme de l'enseignement, la collection *Méthodes* offre à l'étudiant et au chercheur des livres nouveaux.

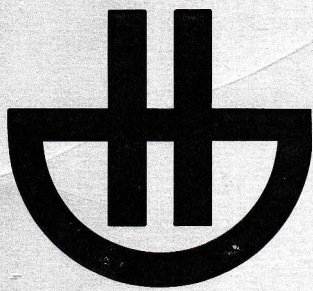
Les auteurs de cette collection ont la double vocation de chercheurs et d'enseignants; aussi leurs livres donnent-ils l'exposé le plus à jour des questions traitées, avec une présentation pédagogique expérimentée et attrayante. Cette synthèse permet au lecteur, dans chaque discipline et à chaque niveau, d'accéder aux stades les plus avancés de la connaissance en percevant l'ensemble du sujet de façon claire et en étant informé des développements en cours.

### **Biologie moléculaire**

LE MÉTABOLISME CELLULAIRE ET SA RÉGULATION, Georges Cohen  
STRUCTURE ET DYNAMIQUE CONFORMATIONNELLE DES PROTÉINES, J. Yon  
LE CODE GÉNÉTIQUE, Jean Tavlitzky. *En préparation*

### **Introduction à la biologie**

LA CELLULE, Michel Durand, Pierre Favard  
BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE, Berkaloff, Bourguet, Favard, Guinnebault  
GÉNÉTIQUE ET ÉVOLUTION, Claudine Petit, Georges Prévost  
SEXUALITÉ, Charles Houillon  
EMBRYOLOGIE, Charles Houillon



Les méthodes  
sont les habitudes de l'esprit  
et les économies de la mémoire  
Rivarol

Hermann, éditeurs des sciences et des arts, 115, bd St-Germain, Paris VI

# TABLE

## I. INTRODUCTION. DÉFINITIONS

## II. MORPHOLOGIE DES PROTÉINES « NATIVES »

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. <i>Différents types de structure des protéines</i> . . . . .                      | 24 |
| 1.1. Structure primaire . . . . .                                                    | 24 |
| 1.2. Structure secondaire . . . . .                                                  | 28 |
| 1.3. Structure tertiaire . . . . .                                                   | 38 |
| 1.4. Structure quaternaire . . . . .                                                 | 42 |
| 2. <i>Nature des forces impliquées dans la stabilité des protéines natives</i> . . . | 43 |
| 2.1. Forces d'interactions électrostatiques . . . . .                                | 44 |
| 2.1.1. Interactions entre deux charges ou interactions<br>coulombiennes . . . . .    | 44 |
| 2.1.2. Interactions entre une charge et un dipôle perma-<br>nent . . . . .           | 46 |
| 2.1.3. Interactions dipôle-dipôle . . . . .                                          | 47 |
| 2.2. Forces d'induction . . . . .                                                    | 49 |
| 2.2.1. Interaction entre une charge permanente et un<br>dipôle induit . . . . .      | 49 |
| 2.2.2. Interaction entre un dipôle permanent et un dipôle<br>induit . . . . .        | 50 |

## TABLE

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3. Interactions électrocinétiques : forces de dispersion de London                                               | 51 |
| 2.4. Interactions répulsives à courte distance . . . . .                                                           | 52 |
| 2.5. Importance de ces diverses interactions dans les protéines                                                    | 54 |
| 2.6. Liaison hydrogène. . . . .                                                                                    | 55 |
| 2.6.1. Nature de la liaison hydrogène . . . . .                                                                    | 55 |
| 2.6.2. La liaison hydrogène dans les protéines . . . . .                                                           | 57 |
| 2.6.2.1. Liaison hydrogène de la chaîne principale . . . . .                                                       | 57 |
| 2.6.2.2. Liaison hydrogène entre les résidus des chaînes latérales . . . . .                                       | 59 |
| 2.7. Stabilisation par résonance . . . . .                                                                         | 61 |
| 2.8. Liaison covalente . . . . .                                                                                   | 63 |
| III. STRUCTURE DES PROTÉINES EN SOLUTION AQUEUSE<br>INTERACTIONS ENTRE LES PROTÉINES ET L'EAU                      |    |
| 1. Résultats des premières études sur l'hydratation des protéines . . . . .                                        | 69 |
| 1.1. Comportement général des protéines séchées vis-à-vis de l'eau                                                 | 69 |
| 1.2. Détermination de la quantité d'eau d'hydratation des protéines en solution . . . . .                          | 71 |
| 2. Théories de Klotz et de Kauzmann sur les interactions entre les protéines et l'eau. . . . .                     | 72 |
| 2.1. Théorie de Klotz . . . . .                                                                                    | 74 |
| 2.2. Théorie de Kauzmann . . . . .                                                                                 | 82 |
| 3. Énergétique des « liaisons hydrophobes », résultats des études thermodynamiques de Nemethy et Scheraga. . . . . | 84 |
| 3.1. Structure de l'eau liquide . . . . .                                                                          | 84 |
| 3.2. Comportement des hydrocarbures en solution . . . . .                                                          | 87 |
| 3.3. La liaison hydrophobe. . . . .                                                                                | 89 |
| 3.3.1. Changement dans la structure de l'eau . . . . .                                                             | 90 |
| 3.3.2. Changement dans l'état des chaînes latérales . . . . .                                                      | 90 |

## TABLE

|                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.3.3. Diminution des rotations internes . . . . .                                                                                                 | 91  |
| 3.3.4. Liaisons hydrophobes entre deux chaînes latérales isolées . . . . .                                                                         | 91  |
| 3.4. Effets de la température sur les liaisons hydrophobes . . .                                                                                   | 94  |
| 4. <i>Importance des liaisons hydrophobes dans la stabilité des protéines natives</i>                                                              | 94  |
| 4.1. Influence des liaisons hydrophobes sur la stabilité des liaisons hydrogènes . . . . .                                                         | 95  |
| 4.2. Influence des liaisons hydrophobes sur la structure de modèles polypeptidiques . . . . .                                                      | 97  |
| 4.3. Rôle du solvant sur la structure des protéines. . . . .                                                                                       | 98  |
| 5. <i>Importance relative des groupes polaires et non polaires sur les structures tertiaire et quaternaire des protéines en solution</i> . . . . . | 99  |
| IV. RÔLE DES PONTS DISULFURES ET DES GROUPES SULFHYDRILES DANS LA STRUCTURE DES PROTÉINES                                                          |     |
| 1. <i>Propriétés des ponts disulfures et des groupes thiols</i> . . . . .                                                                          | 107 |
| 1.1. Structure électronique des groupes SH et des liaisons S-S . .                                                                                 | 107 |
| 1.2. Propriétés des groupes thiols . . . . .                                                                                                       | 107 |
| 1.2.1. Ionisation des groupes SH . . . . .                                                                                                         | 107 |
| 1.2.2. Formation de liaisons hydrogènes et de liaisons hydrophobes . . . . .                                                                       | 109 |
| 1.2.3. Réactivité chimique des groupes SH . . . . .                                                                                                | 110 |
| 1.3. Propriétés des liaisons S-S . . . . .                                                                                                         | 112 |
| 1.4. Réactions d'échange entre groupes SH et ponts disulfures . .                                                                                  | 115 |
| 1.5. Stéréochimie de la liaison disulfure . . . . .                                                                                                | 116 |
| 2. <i>Rôle des groupes sulfhydriles et des ponts disulfures dans la structure « native » des protéines</i> . . . . .                               | 117 |
| 2.1. Rôle des groupes sulfhydriles . . . . .                                                                                                       | 118 |
| 2.2. Rôle des ponts disulfures . . . . .                                                                                                           | 119 |
| 2.3. Rôle des ponts disulfures et des groupes sulfhydriles dans la structure quaternaire des protéines . . . . .                                   | 126 |

# TABLE

|                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3. Rôle des ponts disulfures et des groupes sulfhydriles dans la dénaturation des protéines . . . . . | 129 |
| 3.1. Dénaturation réversible ou transconformation . . . . .                                           | 129 |
| 3.2. Dénaturation irréversible . . . . .                                                              | 131 |

## V. PROCÉDÉS DE DÉNATURATION

|                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. Méthodes physiques . . . . .                                                  | 136 |
| 1.1. Influence de la chaleur . . . . .                                           | 136 |
| 1.2. Influence du froid . . . . .                                                | 137 |
| 1.3. Influence des hautes pressions . . . . .                                    | 138 |
| 1.4. Influence des radiations . . . . .                                          | 139 |
| 1.5. Influence de la dilution . . . . .                                          | 142 |
| 2. Méthodes chimiques . . . . .                                                  | 142 |
| 2.1. Interactions entre protéines et effecteurs . . . . .                        | 143 |
| 2.1.1. Tous les sites sont équivalents et indépendants . . . . .                 | 144 |
| 2.1.2. Les sites sont indépendants mais non équivalents . . . . .                | 147 |
| 2.1.3. La fixation de l'effecteur entraîne des effets électrostatiques . . . . . | 147 |
| 2.1.4. Les sites sont équivalents, mais non indépendants . . . . .               | 149 |
| 2.2. Dénaturation par les ions inorganiques . . . . .                            | 152 |
| 2.2.1. Action des acides et des bases . . . . .                                  | 152 |
| 2.2.2. Action des ions métalliques . . . . .                                     | 157 |
| 2.3. Dénaturation par les solvants et les solutés organiques . . . . .           | 160 |
| 2.3.1. Action des solvants organiques . . . . .                                  | 161 |
| 2.3.2. Action des solutés organiques . . . . .                                   | 163 |
| 3. Méthodes biologiques . . . . .                                                | 165 |
| 4. Protection contre la dénaturation . . . . .                                   | 166 |

## VI. CRITÈRES DE DÉNATURATION

|                                             |     |
|---------------------------------------------|-----|
| 1. Diminution de la solubilité . . . . .    | 173 |
| 2. Perte de l'activité biologique . . . . . | 174 |

# TABLE

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| 3. Apparition de groupes réactifs . . . . .                       | 175 |
| 3.1. Groupements sulfhydriles et ponts disulfures . . . . .       | 176 |
| 3.2. Autres groupes réactifs . . . . .                            | 177 |
| 4. Variations des propriétés électriques des protéines . . . . .  | 178 |
| 4.1. Étude expérimentale des courbes de titrage des protéines . . | 179 |
| 4.2. Équation de Lindertröm-Lang. . . . .                         | 181 |
| 4.3. Groupes masqués et pK anormaux . . . . .                     | 183 |
| 4.4. Variations du facteur w . . . . .                            | 185 |
| 5. Variations des paramètres moléculaires . . . . .               | 187 |
| 5.1. Poids moléculaire . . . . .                                  | 187 |
| 5.2. Forme et hydratation des protéines . . . . .                 | 190 |
| 6. Variations des propriétés optiques . . . . .                   | 192 |

## VII. MÉTHODES D'ÉTUDE DES VARIATIONS DE CONFORMATION DES PROTÉINES

|                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. Spectrophotométrie d'absorption . . . . .                           | 197 |
| 1.1. Spectrophotométrie directe . . . . .                              | 198 |
| 1.2. Spectrophotométrie différentielle. . . . .                        | 203 |
| 1.3. Méthode de « perturbation de solvant » . . . . .                  | 205 |
| 1.4. Étude spectrophotométrique de la liaison peptidique . . . .       | 207 |
| 2. Spectrophotométrie d'émission : fluorescence . . . . .              | 209 |
| 3. Spectropolarimétrie : propriétés rotatoires des protéines . . . . . | 210 |
| 3.1. Propriétés rotatoires à une longueur d'onde . . . . .             | 211 |
| 3.2. Dispersion rotatoire . . . . .                                    | 216 |
| 3.3. Rotation optique dans les régions absorbantes : effet Cotton      | 219 |

## VIII. CINÉTIQUE DE LA TRANSCONFORMATION ET DE LA DÉNATURATION DES PROTÉINES

|                                                     |     |
|-----------------------------------------------------|-----|
| 1. Détermination de l'ordre des réactions . . . . . | 232 |
| 2. Équilibre de transconformation . . . . .         | 238 |

# TABLE

|                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3. <i>Influence du pH sur les cinétiques de transconformation et de dénaturation</i>                | 240 |
| 3.1. Influence directe . . . . .                                                                    | 240 |
| 3.2. Influence indirecte . . . . .                                                                  | 241 |
| 4. <i>Influence de la force ionique sur les cinétiques de transconformation et de dénaturation.</i> | 243 |
| 4.1. Effet de sel primaire . . . . .                                                                | 243 |
| 4.2. Effet de sel secondaire. . . . .                                                               | 244 |
| 4.3. Effets des sels sur les interactions entre protéine et solvant                                 | 245 |
| 5. <i>Complexité des réactions de dénaturation</i>                                                  | 247 |

## IX. ÉNERGÉTIQUE DE LA TRANSCONFORMATION ET DE LA DÉNATURATION DES PROTÉINES

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. <i>Activation des molécules</i>                                                    | 252 |
| 1.1. Théorie des collisions . . . . .                                                 | 252 |
| 1.2. Théorie des vitesses absolues . . . . .                                          | 254 |
| 1.3. Interprétation des données expérimentales . . . . .                              | 255 |
| 1.3.1. Dénaturation thermique . . . . .                                               | 255 |
| 1.3.2. Dénaturation de surface . . . . .                                              | 262 |
| 1.3.3. Dénaturation par l'urée . . . . .                                              | 262 |
| 2. <i>Équilibre de transconformation</i>                                              | 264 |
| 2.1. Transconformation thermique . . . . .                                            | 264 |
| 2.2. Transconformation sous l'influence de solvants organiques et de l'urée . . . . . | 266 |
| 3. <i>Détermination du nombre de liaisons rompues au cours de la dénaturation</i>     | 268 |

## X. MÉCANISMES DE LA DÉNATURATION

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. <i>Pluralité des formes dénaturées</i>                                | 280 |
| 2. <i>Théorie des deux états dans la transconformation des protéines</i> | 282 |

# TABLE

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| 3. Morphologie des transformations moléculaires . . . . .   | 290 |
| 4. Transconformation, dénaturation et biosynthèse . . . . . | 291 |

## XI. TRANSCONFORMATION ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES ENZYMES

|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| 1. Théorie de l'ajustement induit . . . . .     | 297 |
| 2. Transition allostérique . . . . .            | 301 |
| 3. Modèles de Koshland . . . . .                | 307 |
| 4. Équation d'Adair-Weber généralisée . . . . . | 311 |